

JURNAL

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN NAMNAM (*Cynometra cauliflora* L.) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis* DAN *Pseudomonas aeruginosa*

**Disusun oleh
Fenty Waty
NPM : 120801295**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2016**

AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN NAMNAM (*Cynometra cauliflora* L.) TERHADAP *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF NAMNAM LEAVES (*Cynometra cauliflora* L.) EXTRACT AGAINST *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*

Fenty Waty^{1,*}, B. Boy Rahardjo Sidharta¹, Dr. rer. nat. Y. Reni S, S.TP,M.P¹
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
*Fentywaty94@gmail.com

INTISARI

Namnam atau kopi anjing adalah nama sejenis pohon berbuah dari suku polong-polongan (Leguminosae atau Fabaceae). Tanaman ini merupakan satu di antara jenis tanaman asli Indonesia yang mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan tanin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan antibakteri ekstrak daun namnam dalam menghambat *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan perlakuan variasi konsentrasi ekstrak etil asetat daun namnam. Penelitian ini diawali dengan proses ekstraksi dengan metode maserasi selama 5 hari dengan pelarut etil asetat. Ekstrak selanjutnya dibuat variasi konsentrasi yaitu 20, 40, 60 dan 80%, serta diuji aktivitas antibakteri dengan metode *paper disk*. Luas zona hambat yang terbentuk dari ekstrak dengan konsentrasi 20, 40, 60 dan 80 % untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* secara berurut adalah 0,84, 0,94, 1 dan 1,3 cm² sedangkan untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* secara berurut adalah 0,58, 0,84, 0,98 dan 1,16 cm². Berdasarkan penelitian yang dilakukan, konsentrasi 80% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Setelah diketahui konsentrasi efektif ekstrak tersebut, dilanjutkan pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap kedua bakteri uji dengan metode dilusi cair dan *Total Plate Count* (TPC). Berdasarkan penelitian, nilai KHM untuk *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 80%.

ABSTRACT

Namnam or kopi anjing is the name of a type of fruit trees from family of legumes (Leguminosae or Fabaceae). This plant is one of the native species in Indonesia that contains alkaloid, flavonoid, saponin, steroid and tannin. The purpose of this study was to determine the ability of antibacterial activity of Namnam leaf extract against *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. This study uses a completely randomized design with treatments in variation concentrations of ethyl acetate extract of namnam leaves. This study begins with the extraction process with maceration for 5 days using solvent ethyl acetate. Extract divided into various concentrations of 20, 40, 60 and 80%, and tested for antibacterial activity by the paper disk method. Size inhibition zone formed from the extract with a concentration of 20, 40, 60 and 80 % for *Staphylococcus epidermidis* sequentially was 0.84, 0.94, 1 and 1.3 cm² while for *Pseudomonas aeruginosa* sequentially is 0.58, 0.84, 0.98 and 1.16 cm². Based on the research, 80 % concentration is the concentration of the most effective in inhibiting *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. After knowing the effective concentration of the extract, continued with testing of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) against both bacteria test with liquid dilution method and Total Plate Count (TPC). Based on research, MIC for *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* was 80%

Keyword : namnam, ethyl acetate, extraction, antibacterial, *staphylococcus epidermidis*, *pseudomonas aeruginosa*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki ribuan jenis tumbuhan yang sebagian besar dapat digunakan sebagai obat tradisional. Hal ini menandakan adanya kesadaran masyarakat untuk kembali ke alam dalam rangka mencapai kesehatan yang optimal dan untuk mengatasi berbagai penyakit secara alami (Kusuma, 1993). Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan – bahan alami murni, memiliki efek samping, tingkat bahaya dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia (Sunaryanti, 2012).

Salah satu tanaman obat yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah tanaman namnam. Namnam atau kopi anjing adalah nama sejenis pohon berbuah dari suku polong-polongan (Leguminosae atau Fabaceae). Tanaman ini merupakan satu di antara jenis tanaman asli Indonesia. Selain itu, tanaman ini juga tumbuh di Asia Tenggara dan India (Verheij dan Coronel, 1997). Namnam yang merupakan tanaman famili Leguminosae dilaporkan sebagai penghasil senyawa fenolik yang dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, anti-HIV, antibakteri, antifungal, dan antihepatotoksik (Kristanti dkk, 2006).

Kandungan kimia dari daun namnam antara lain alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid (Aziz dkk., 2013). Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengerutkan dinding atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel dan mengakibatkan pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004). Saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel (Assani, 1994). Flavonoid

akan menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Sabir, 2005).

Menurut Nurfadilah (2013), bakteri yang menyebabkan infeksi pada luka pada jaringan kulit, mukosa mulut, saluran kemih, saluran nafas, jerawat, luka bakar dan infeksi nosokomial adalah *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri Gram negatif dan *Staphylococcus epidermidis* yang merupakan bakteri Gram positif. Bakteri yang berada di tubuh manusia dapat menyebabkan infeksi dan menimbulkan gejala yang berbeda. Pada sebagian besar kasus infeksi, penggunaan antibiotik sangat diperlukan tetapi apabila pemakaiannya berlebihan akan menyebabkan bakteri menjadi resisten. Oleh karena itu, kita memerlukan alternatif untuk mengatasi masalah penggunaan antibiotik yang berlebihan, salah satunya adalah dengan menggunakan obat tradisional yang memiliki efek samping lebih kecil dan harga yang lebih terjangkau (Kusuma,1993).

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun namnam yang diperoleh dari petani di daerah Purworejo, Jawa Tengah. Pelarut yang digunakan yaitu etil asetat 96%. Isolat bakteri uji berupa *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang diperoleh dari Pusat Studi Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Medium yang digunakan adalah *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth Oxoid*. Kontrol positif yang digunakan merupakan kloramfenikol disk

Oxoid 10 mg dan kloramfenikol tablet 500 mg. Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini berupa *mealer machine*, ayakan 61 mesh, *rotary evaporator* RV06-ML KIKA WERKE, *shaker incubator* JSSI300C, oven Venticell, timbangan analitik Mettler Toredon Al204, autoklaf Hirasima HVE50, *Laminar Air Flow* ESCO, Microwave Panasonic, vortex 37600 Mixer Termolyne, GCMS Shimadzu, inkubator Memmert, mikroskop, tabung reaksi, petridish, dan alat-alat pendukung lainnya..

Tahap Pelaksanaan

Daun yang digunakan diambil dari petani di daerah Purworejo dengan umur pohon 5 tahun. Daun yang diambil adalah daun yang berwarna hijau tua. Serbuk daun sebanyak 100 gram dimaserasi dengan cara simplisia direndam dalam pelarut sebanyak 500 ml (perbandingan 1:5) selama \pm 48 jam pada suhu ruang (27 °C) menggunakan *incubator shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Sampel disaring dengan kertas saring. Residu yang diperoleh dari hasil penyaringan dimaserasi kembali dengan cara yang sama sebanyak 2 kali. Maserat yang diperoleh, ditampung menjadi satu dan diuapkan untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 77 °C untuk pelarut etil asetat (Hidayati, 2015 dengan modifikasi).

Identifikasi fitokimia ekstrak etanol dan akuades daun ungu adalah uji kualitatif alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff (Harborne, 1987 dengan modifikasi), uji flavonoid dengan serbuk Mg dan amil alkohol (Harborne, 1987 dengan modifikasi), uji tanin menggunakan FeCl_3 (Harborne, 1987

dengan modifikasi), uji triterpenoid/ steroid *Lieberman Burchard*, dan uji saponin (Harborne, 1987 dengan modifikasi). Uji kuantitatif senyawa pada ekstrak daun namnam dilakukan di Laboratorium Terpadu UII menggunakan GCMS (Adams, 1995).

Uji kemurnian bakteri uji yang dilakukan meliputi uji morfologi sel (pengecatan Gram) dan morfologi koloni bakteri, uji motilitas, uji katalase dan uji sifat biokimia yang terdiri dari uji fermentasi karbohidrat (Capuccino dan Sherman, 2011),

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *paper disk*. Suspensi bakteri uji yang telah dibandingkan dengan standar 0,5 McFarland diambil 100 µl, kemudian diinokulasikan pada medium agar petri dengan metode *spread plate*. *Paper disk* masing-masing diisi dengan ekstrak etil asetat daun namnam dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80 % dan kontrol negatif berupa pelarut dimetil sulfooksida serta kloramenikol disk sebagai kontrol positif. Medium agar petri kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam, dilakukan pengamatan ada tidaknya zona bening (Waluyo, 2010 dengan modifikasi).

Penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan metode dilusi cair dengan variasi konsentrasi 100, 80, 60, 40, dan 20 mg/ml. Setiap konsentrasi ekstrak sebanyak 1 ml ditambahkan ke dalam 1 ml inokulum kemudian dilarutkan menggunakan vortex. Kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif yang digunakan yaitu inokulum tanpa penambahan ekstrak. Pasca inkubasi 18-20 jam, inokulum dari setiap tabung diambil sebanyak 100

µl dan diinokulasikan pada medium nutrisi agar dengan metode *spread plate*, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan oleh tidak adanya pertumbuhan bakteri pada setiap konsentrasi ekstrak pasca diinokulasikan pada medium agar petri dengan metode *spread plate*. Konsentrasi ekstrak terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Andrews, 2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil rendemen ekstrak yang diperoleh dengan pelarut etil asetat dan lama maserasi 5 hari adalah 4,72 %. Bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Sukandar dan Amelia (2013) mengenai daun namnam yang dimaserasi dengan pelarut metanol selama 33 jam, rendemen ekstrak yang dihasilkan 6,16 %. Hal tersebut menunjukkan hasil rendemen ekstrak daun namnam yang dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat selama 5 hari lebih kecil. Berdasarkan perbandingan tersebut, dapat dilihat bahwa proses maserasi dengan pelarut etil asetat selama 5 hari tersebut kurang efektif karena hasil rendemen ekstrak hanya 4,72 % dibandingkan dengan penelitian Sukandar dan Amelia (2013) yang menunjukkan hasil rendemen ekstrak selama 33 jam yaitu 6,16 %. Hasil rendemen ekstrak dengan pelarut etil asetat lebih kecil karena kurang efektifnya pelarut dalam mengekstrak serbuk daun, proses maserasi selama 5 hari juga menjadikan pelarut jenuh sehingga tidak dapat menarik senyawa yang ada secara maksimal. Proses ekstraksi sebaiknya dilakukan selama 24 jam dengan perbandingan pelarut 1 : 10 agar proses penarikan senyawa pada bahan

oleh pelarut dapat terjadi secara maksimal sehingga menaikkan nilai hasil rendemen (Sukandar dan Amelia, 2013).

Hasil uji fitokimia secara kualitatif (Tabel 1) ekstrak etil asetat daun namnam menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya endapan pasca penambahan reagen Wagner, Mayer, dan Dragendorff. Hasil positif juga ditunjukkan pada uji flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna merah bata setelah penambahan serbuk Mg dan amil alkohol. Ekstrak etil asetat daun namnam menunjukkan hasil positif pada uji steroid yang ditandai dengan terbentuknya warna hijau pasca penambahan reagen *Lieberman-Burchard*. Ekstrak juga menunjukkan hasil positif pada uji saponin (terbentuk buih) dan pada uji tanin terbentuk warna hijau kehitaman. Uji kuantitatif juga dilakukan terhadap ekstrak etil asetat daun namnam menggunakan instrument GCMS diperoleh hasil bahwa terdapat 7 senyawa yang terkandung pada ekstrak etil asetat daun namnam yaitu etil asetat, benzena, naftalena, eugenol, caryophyllrna, santalol dan vitamin E asetat.

Tabel 1. Hasil Pengujian Senyawa Kimia Ekstrak Etil Asetat Daun Namnam (*Cynometra cauliflora*)

Metabolit Sekunder	Hasil Akhir Setelah Pengujian	Hasil
Alkaloid (Meyer, Wagner dan Dragendorff)	Meyer : terbentuk endapan putih Wagner : terbentuk endapan coklat Dragendorff : terbentuk endapan merah	+
Saponin	Terbentuk buih	-
Flavonoid	Terbentuk warna kuning	+
Tanin	Terbentuk warna biru kehitaman	+
Steroid	Terbentuk warna hijau	+
Triterpenoid	Terbentuk warna merah	-

Keterangan : + = menunjukkan adanya senyawa tersebut

- = menunjukkan tidak adanya senyawa tersebut

Uji kemurnian bakteri yang dilakukan meliputi pengamatan morfologi koloni pada medium petri agar, pengecatan Gram, uji motilitas, uji katalase dan uji biokimia yang meliputi uji fermentasi karbohidrat (Tabel 2). Hasil dari uji kemurnian bakteri uji yang dilakukan menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan benar bakteri *S.epidermidis* dan *P.aeruginosa*, sesuai dengan penjelasan yang dikemukakan oleh Breed dkk. (1957).

Tabel 2. Hasil Uji Kemurnian *Staphlococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Parameter Uji Kemurnian Bakteri	<i>Staphlococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Morfologi koloni	Putih, bulat dan tepi halus	Irregular, berwarna putih
Pengecatan Gram	Gram positif	Gram negatif
Uji Motilitas	Non-motil	Motil
Uji Katalase	Positif	Positif
Fermentasi Karbohidrat :		
• Laktosa	+	-
• Glukosa	+	-
• Sukrosa	+	-

Keterangan : + = dapat memfermentasikan karbohidrat

- = tidak dapat memfermentasi karbohidrat

Hasil uji Duncan (Tabel 3) menunjukkan bahwa terdapat beda nyata antara variasi konsentrasi ekstrak daun namnam. Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa daya penghambatan ekstrak daun namnam dengan konsentrasi 80 % adalah yang terbaik dengan rata-rata luas zona hambat pada kedua bakteri tersebut adalah 1,23 cm². Daya penghambatan ekstrak daun namnam dengan konsentrasi 60 % memiliki rata-rata luas zona hambat yaitu 0,99 cm², konsentrasi 40 % memiliki rata-rata luas zona hambat

0,89 cm² dan konsentrasi 20 % memiliki rata-rata luas zona hambat yaitu 0,71 cm².

Kontrol negatif berupa pelarut DMSO tidak memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan kedua bakteri uji karena tidak adanya zona bening yang terbentuk di sekitar *paper disk*, selain itu kontrol positif berupa kloramfenikol memiliki rata-rata luas zona hambat paling besar yaitu 2,45 cm². Perbandingan antara luas zona hambat variasi konsentrasi dan kontrol positif menunjukkan konsentrasi 80 % memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri yang paling baik.

Tabel 3. Luas zona hambat (cm²) aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun namnam dengan variasi konsentrasi, kontrol negatif dan kontrol positif terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Perlakuan	Luas Zona Hambat (cm ²)		Rata-Rata
	<i>S. epidermidis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	
Kontrol negatif (DMSO)	0 ^a	0 ^a	0 ^A
Konsentrasi 20%	0,84 ^b	0,58 ^b	0,71 ^B
Konsentrasi 40%	0,94 ^{bc}	0,84 ^c	0,89 ^C
Konsentrasi 60%	1,00 ^c	0,98 ^{cd}	0,99 ^C
Konsentrasi 80%	1,30 ^d	1,16 ^d	1,23 ^D
Kontrol positif (Kloramfenikol)	2,34 ^e	2,56 ^e	2,45 ^E
Rata-Rata	1,70 ^x	1,02 ^y	1,045 ^z

Kandungan kimia dari daun namnam antara lain alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid (Aziz dkk., 2013). Tanin memiliki aktivitas antibakteri dengan cara mengerutkan dinding atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel dan mengakibatkan pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004). Saponin akan merusak membran sitoplasma dan membunuh sel (Assani, 1994). Flavonoid

akan menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding bakteri sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA bakteri (Sabir, 2005).

Tabel 9. Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Konsentrasi (%)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
100	-	-
80	-	-
60	-	+
40	+	+
20	+	+

Keterangan : + = terdapat pertumbuhan bakteri
 - = tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Berdasarkan hasil pengujian KHM terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, terlihat bahwa ekstrak daun namnam memiliki potensi antibakteri lebih efektif terhadap bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan karena perbedaan struktur dinding sel pada bakteri Gram positif dan negatif. Dinding sel pada bakteri Gram negative lebih kompleks dibandingkan dengan dinding sel pada bakteri Gram positif. Bakteri Gram positif memiliki susunan dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan, polisakarida (asam teikoat) dan sedikit lipid sedangkan bakteri Gram negatif lebih banyak mengandung lipid dan sedikit peptidoglikan (Jawetz dkk., 2006 ; Dewi, 2010 ; Yusman, 2006).

SIMPULAN

Penelitian yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Namnam (*Cynometra cauliflora*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*” menghasilkan simpulan yaitu :

1. Ekstrak etil asetat daun namnam dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Konsentrasi ekstrak etil asetat daun namnam (*Cynometra cauliflora*) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah 80 %.
3. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etil asetat daun namnam (*Cynometra cauliflora*) untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* adalah 60 % dan untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah 80 %.

SARAN

Saran yang dapat diajukan terkait penelitian aktivitas antibakteri ekstrak daun namnam (*Cynometra cauliflora*) terhadap *Staphylococcus epidermidis* dan *Pseudomonas aeruginosa* adalah:

1. Ekstrak yang diperoleh dalam penelitian ini tergolong sedikit, untuk itu diperlukan optimasi waktu yang digunakan untuk ekstraksi dengan dan pelarut untuk mendapatkan hasil ekstrak terbaik.
2. Penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang ada pada ekstrak daun namnam yang paling berperan sebagai antibakteri dengan metode kuantifikasi yang lain.
3. Aplikasi daun namnam sebagai antibakteri alami misalnya pengembangan ekstrak daun namnam sebagai bahan obat seperti salep, obat cair atau obat oral data dikaji lebih lanjut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, R. 1995. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy*. Allured Publishing Co., Carol Stream, IL. Halaman: 20.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella thypinurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *J. Bioscientiae* 1(1) : 31-38.
- Aloush, V. 2006. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* : risk actors and clinical impact. *Antimikrob Agents Chemother* 50(1) : 43-48.
- Aziz, Azalina, F.A. dan Iqbal, M. 2013. Antioxidant Activity and Phytochemical Compotion of *Cynometra cauliflora*. *Journal of Experimental and Intergrative Medicine* 5 : 337-341.
- Brannen, L.A. dan Davidson, P.M. 1993. *Antimicrobials in Foods*. Marcel Dekker, New York.
- Breed, R.S., Murray, E.G.D., dan Smith, N.R. 1957. *Manual of : Determinative BActeriology*. The williams and Wikins Company, USA. Halaman: 56-465.
- Cappuccino, J.G., dan Sherman, N. 2011. *Microbiology a Laboratory Manual 9th edition*. Pearson Benjamin Cummings, San Fransisco. Halaman: 10-11.
- David, W.A., Stanley M. M. dan Hiroshi, Y. 1983. Production of Ethyl Acetate from Dilute Ethanol Solutions by *Candida utilis*. *Biological and Bioengineering* 24 : 1038-1041.
- Dewi, F.K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi S-1*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Departemen Kesehatan RI, Jakarta. Halaman: 40
- Djamal, R., 1988. *Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat*. Pusat Penelitian. Universitas Negeri Andalas, Padang. Halaman: 12.
- Elizabeth, A., Velammd dan Jamila, P. 2012. Phytochemicals of the Seagrass *Syringodium isoetifolium* and Its Antibacterial and Insecticidal Activity. *Eropean Jurnal of Biological Science* 4 (3); 63-67.

- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Perawatan*. PT. Citra Aditya Bakti, Bandung. Halaman: 7-10.
- Fardiaz, S. 1989. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Petunjuk Laboratorium. PAU Pangan dan Gizi. IPB, Bogor. Halaman: 5,9.
- Gaspersz, V. 1994. *Metode Perancangan Percobaan*. Amico, Bandung. Halaman: 227.
- Gunawan, D. dan Mulyani, S. 2004. *Ilmu obat alam (Farmakognosi Jilid 1)*. Penebar Swadaya, Jakarta. Halaman: 35.
- Handoko, R. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tumbuhan Sala (*Cynometra ramilora* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Klebsiella pneumoniae* Serta Bioautografinya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Harborne, J. B. 1984. *Phytochemical Method*. Chapman and Halaman:1 ltd, London. Halaman: 8-11.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Penerbit ITB, Bandung. Halaman: 15.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia*. Penerbit ITB, Bandung. Halaman: 23.
- Hidayati, R.H. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan Ekstrak Daun Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) terhadap *Escherichia coli* ATCC 35218 dan *Shigella flexneri* ATCC 12022. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga, Yogyakarta.
- Kusuma, W.H. 1993. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia Jilid IV*. Pustaka Kartini, Jakarta. Halaman: 2.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikrobial di Laboratorium*. Raja Grafindo Persada, Jakarta. Halaman: aman : 67-71.
- Leboffe, M.J., dan Pierce, B.E. 2012. *Microbiology : Laboratory Theory and Application*. Morton Publishing Company, Colorado. Halaman: aman : 381-85.
- Murray, H., Wiryowidagdo dan Halaman:en, G. 1990. A large scale extraction technique of artemisinin from *Artemisia annua*. *J. Natural Products* 6 : 1560 - 1564.

- Novak, I., Janeiro, P., Seruga, M. dan Oliveira-Brett, A.M. 2008. Ultrasound Extracted Flavonoids from Four Varieties of Portuguese Red Grape Skins Determined by Reverse-phase High-performance Liquid Chromatography with Electrochemical Detection. *Analytica Chimica Acta* 630 : 107–115.
- Rahayu, L. 2011. Uji Coba Asam Sunti sebagai Bahan Pengawet Ikan Bandeng (*Chanos chanos*). *Skripsi S-1*. Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Rostinawati, T. 2010. Aktivitas Antimikrobia Ekstrak herba Tespong (*Oenanthe javavica* D.C) Terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor.
- Sinambela, A. N. 2012. Uji Fitokimia Ekstrak Daun Ranti (*Solanum nigrum* L.) yang Berpotensi sebagai Imunostimulan. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Medan, Medan.
- Sukandar, D. dan Amelia, E.R. 2013. Karakterisasi Senyawa Aktif Antioksidan dan Antibakteri Dalam Ekstrak Etanol Buah Namnam (*Cynometra cauliflora* L.). *Jurnal Valensi* 3(1) : 35-40.
- Suprianto, 2008. Potensi Ekstrak Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) sebagai penghasil minyak atsiri, tanaman konservasi dan pakan ternak. *Prosiding Seminar Nasional*. Bogor.
- Tristiyo, 2009. Studi Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Aktif Antibakteri Buah Gambas. *Skripsi S-1*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. UNS. Surakarta.
- Yuningsih, R. 2007. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jawer Kotok (*Cleus scutellarioides* L.). *Skripsi*. Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Yuswandi, A.F., Purwantoro, R.S., Satyanti dan Annisa. 2010. Namnam (*Cynometra cauliflora* L.) di Kebun Raya Bogor : Tingkat Kejadian Buah Rendah dan Studi Laju Perkembangan Buah. *7th Basic Science National Seminar Proceeding*, Malang.
- Zimbardo, M.J., Power, D.A., Miller, S.M., Wilson, G.E. dan Johnson, J.A. 2009. *Difco™ & BBL Manual : Manual of Microbiological Culture Media 2nd Ed.* Dickinson and Company, Maryland. Halaman: 49.